CARBOHYDRASEN STREUBEWOHNENDER COLLEMBOLEN UND ORIBATIDEN

D. ZINKLER

Abt. für Biologie der Ruhr-Universität Bochum, Lehrstuhl für Tierphysiologie (Deutschland)

Der grosse Individuenreichtum laubstreubewohnender Oribatiden und Collembolen lässt eine qualitativ und quantitativ fassbare Beteiligung dieser Tiere an den natürlichen Zersetzungsprozessen des Waldbodens vermuten. Obgleich beide Tiergruppen aus diesem Grund schon mehrfach im Mittelpunkt eingehender Untersuchungen zur Nahrungswahl standen (Schuster, 1956 ; Dunger, 1956), ist über kohlenhydratspaltende Fermente dieser vornehmlich laubstreu- und mikrophytenverzehrenden Kleinarthropoden bisher nichts bekannt geworden (Zinkler, 1969). Da aber gerade tierische Verdauungsenzyme ganz allgemein Rückschlüsse auf Nahrungsgewohnheiten zulassen, erscheint eine Charakterisierung der Carbohydrasen ökologisch repräsentativer Oribatiden- und Collembolenarten gerechtfertigt.

Die Auswahl von acht bislang untersuchten anthropleonen Collembolenarten erfolgte im Hinblick auf eine deutliche Gliederung in Lebensformtypen : Oberflächenbewohnern (*Tomocerus flavescens*) wurden Tiefenformen (*Onychiurus subuliginatus*) gegenübergestellt.

Die sechs bislang untersuchten Oribatidenarten ([1]) wurden aufgrund von Nahrungsgewohnheiten aus folgenden Gruppen ausgewählt : Bestandesabfall wie Fallaub und Holz verwertende Makrophytenfresser (*Phthiracarus piger*), Pilzhyphen, Pilzsporen und Flechtenreste aufnehmende Mikrophytenfresser (*Eupelops plicatus*) und sowohl mikro- als auch makrophytische Nahrung verzehrende Nichtspezialisten (*Nothrus silvestris*). Es fanden nur Frischfänge aus der Laubstreu von Eichenmischwäldern der Umgebung von Braunschweig und Würzburg Verwendung.

Da das Darmsystem der Collembolen und Oribatiden aufgrund ihrer geringen Körpergrösse bzw. starken Chitinisierung präparatorisch für Serienuntersuchungen nicht zugänglich ist, fanden Homogenate ganzer Individuen Verwendung. Hauptverantwortlich für die Sezernierung kohlenhydratspaltender Fermente ist vermutlich der Mitteldarm.

Mit empfindlichen Mikromethoden auf der Basis enzymatisch-photometrischer Tests (Zinkler, 1969) sowie Dünnschichtchromatographie wurde die Spaltungsaktivität der Homogenate (0,5-5 mg Tiermaterial in 200 µl 0,6 p. 100 NaCl-Lösung),

([1]) Herrn Dr P. Lebrun, Louvain, danke ich für die Bestimmung

gegenüber verschiedenen Kohlenhydraten qualitativ und quantitativ verfolgt. Die Inkubationszeit betrug für Disaccharide 30 mn, für Polysaccharide 10 Std bei 25°C.

Als erster Schritt einer vergleichenden Prüfung des Carbohydrasenspektrums ökologisch repräsentativer Collembolen- und Oribatidenarten wurde die Spaltungsaktivität gegenüber einigen in der Natur weit verbreiteten Disacchariden bestimmt.

Ausgehend von ermittelten pH-Kurven lässt sich die absolute Grösse der Spaltung im pH-Optimum in µMol gespaltenem Substrat/g Frischgewicht/Std/200 µl Homogenat für fünf aus einer grösseren Gruppe stellvertretend ausgewählte Arten vergleichend darstellen. Von den sechs gebotenen Disacchariden Saccharose, Maltose, Trehalose, Cellobiose, α-Melibiose und Lactose werden in nennenswertem Umfang nur Saccharose, Maltose und Cellobiose gut hydrolisiert. Vereinfacht dargestellt spalten makrophytophage Oribatiden (*Phthiracarus piger*) bevorzugt das β-Glucosid Cellobiose, die Mikrophytophagen (*Eupelops plicatus*) dagegen das α-Glucosid Maltose. Der Ernährungstyp der Nichtspezialisten steht zwischen beiden Extremen : *Nothrus silvestris* hydrolisiert Maltose und Cellobiose in etwa gleich stark. Aus ökologischer Sicht besonders hervorzuheben ist das Vorkommen ausgeprägter β-Glucosidase-Aktivität, wird doch die natürliche Funktion dieser Carbohydrase zumeist mit dem letzten Schritt des Celluloseabbaus in Verbindung gebracht.

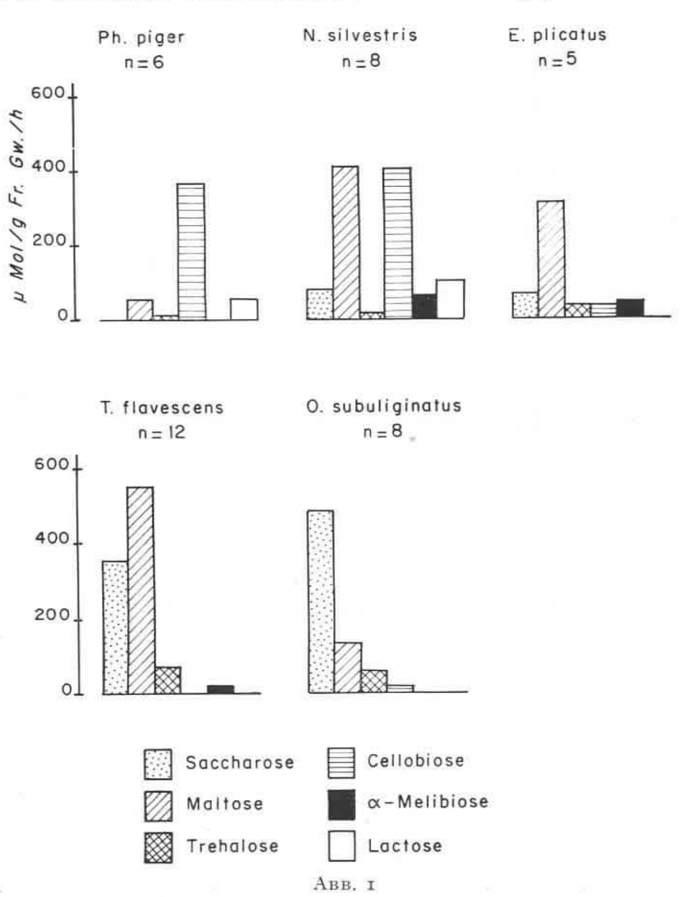


ABB. 1

Der Collembole *Tomocerus flavescens* spaltet bevorzugt Maltose, *Onychiurus subuliginatus* dagegen Saccharose. Aufgrund fehlender bzw. nur geringer « Cellobiase »-Aktivität lassen sich die Collembolen wohl am besten mit dem mikrophytophagen Ernährungstyp der Oribatiden vergleichen. Ähnlichkeiten zwischen Collembolen und mikrophytophagen Oribatiden scheinen auch im Hinblick auf die Hydrolyse von Lactose gegeben, denn beide Gruppen vermögen Lactose nicht oder nur in sehr geringem Umfang (ZINKLER, 1969) zu spalten.

Als zweiter Schritt einer vergleichend quantitativen Aktivitätsprüfung des Carbohydrasenspektrums ökologisch repräsentativer Oribatiden- und Collembolenarten wurden in der Natur weit verbreitete Polysaccharide als Substrat geboten (Tab. 1).

Aufgrund ausgeprägter α-Amylase-Aktivität wird das Reservekohlenhydrat Stärke von allen untersuchten Arten gut gespalten.

Aus ökologischer Sicht wesentlich interessanter sind Untersuchungen mit in der sekundären Zellwand eingelagerten Gerüstsubstanzen wie Cellulose, Xylan und Pektin. Diese pflanzlichen Zellwandbestandteile bilden nicht nur Hauptkomponenten des zu zersetzenden Bestandesabfalls sondern sind auch wesentlich schwieriger aufzuschliessen als z. B. das Reservekohlenhydrat Stärke.

Die Verwendung hochpolymerer pflanzlicher Gerüstsubstanzen als Substrat machte es notwendig, die Inkubationszeit der Ansätze wesentlich zu verlängern. Waren die bisherigen Versuche auf 30 mn bei 25°C begrenzt, so wählte ich nun die Dauer der Darmpassage des Oribatiden *Steganacarus magnus* -nämlich 10 Std — als zeitlichen Parameter. Um Verfälschungen durch Bakterienwuchs auszuschliessen,

TABELLE I

Carbohydrasenaktivität ökologisch repräsentativer Oribatiden- und Collembolenarten

Substrate	Oribatei			Collembola	
	P. piger	*N. silvestris*	*E. plicatus*	*T. flavescens*	*O. subuliginatus*
α-Glucoside					
Saccharose	—	+	+	++	+++
Maltose	+	+++	++	++	++
Trehalose.......	+	+	+	+	+
β-Glucoside					
Cellobiose	++	++	+	—	+
α-Galaktosid					
α-Melibiose	—	+	+	+	—
β-Galaktosid					
Lactose	+	++	+	—	—
Polysaccharide					
Stärke	++	+++	+++	+++	++
CMC	++	+++	—	—	(+)
Cellulose	—	—	—	—	—
Xylan	++	++	—	—	—
Pektin	+++	+++	—	—	—

fügte ich den Langzeitinkubationen jeweils 20 µl 1 p. 100 Toluol bzw. Leucomycin (Breitband-Antibiotikum) hinzu.

Aufgrund relativ hoher « Cellobiase »-Aktivität einiger Oribatidenarten bot sich die höherpolymere aber noch wasserlösliche Carboxymethylcellulose als nächstes Substrat geradezu an. Der Versuch erbrachte nur für makrophytenfressende Oribatiden ein positives Ergebnis. Die von Nothrushomogenaten in 60 min. aus 1 p. 100 CMC freigesetzte Glucosemenge entspricht in etwa 15 p. 100 der Enzymaktivität gegenüber Maltose.

Da die hypothetische Zwischenstufe des Celluloseabbaus — nämlich CMC — von einigen Arten hydrolisiert werden konnte, wurde als nächster Schritt reine Cellulose in 1 p. 100 Suspension geboten. Der Test verlief jedoch eindeutig negativ.

Aus der Gruppe der mit Cellulose stets vergesellschafteten Hemicellulosen fand das Polysaccharid Xylan als Substrat Verwendung. Nachdem dünnschichtchromatographische Vorversuche ein positives Ergebnis erbrachten, wurde eine photometrische Methode (Roe and Rice, 1958) für die Mikrobestimmung des Hydrolyseprodukts Xylose modifiziert. Die Versuche ergaben, dass makrophytophage Oribatiden Xylansubstrat in beträchtlichem Masse zu hydrolisieren vermögen. Die durch « Xylanase » -Aktivität freigesetzte Xylosemenge beträgt z. B. für *Nothrus silvestris* 50,5 µg Xylose/mg Frischgewicht/200 µl Extrakt/h bei 25°C ($n = 4$). Im gleichen Zeitraum liegt die aus Maltose freigesetzte Glucosemenge lediglich um den Faktor 3 darüber.

Als bislang letztes Substrat wurde Pektin, ein im wesentlichen aus D-Galakturonsäure aufgebautes Polysaccharid der Mittellamelle der Pflanzenzelle als Substrat geboten. Mit Hilfe dünnschichtchromatographischer Methodik (Koller and Neukom, 1964) konnte festgestellt werden, dass lediglich makrophytophage Oribatiden Pektin zu hydrolisieren vermögen.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass alle Homogenate ökologisch repräsentativer Collembolen- und Oribatidenarten einen durch quantitative und qualitative Unterschiede gekennzeichneten Carbohydrasensatz zur Hydrolyse der wichtigsten pflanzlichen Kohlenhydrate enthalten. Ob die mitgeteilten Enzymaktivitäten bakterischen oder tiereigenen Ursprungs sind, ist in diesem Zusammenhang weniger wichtig. Aus ökologischer Sicht muss lediglich die Bindung von Mitteldarmflora und Tier eng sein.

Eine ernährungsphysiologische Interpretation der Ergebnisse muss dagegen immer berücksichtigen, dass die mitgeteilten Enzymaktivitäten nur Aufschluss darüber zu geben vermögen, welche Substrate vom Tier theoretisch genutzt werden könnten. In welchem Masse die verzehrte Nahrung wirklich aufgeschlossen wird, bleibt unbekannt. Immerhin versprechen solche Untersuchungen spezifischere Aussagen als die methodisch bislang wesentlich groberen Analysen von Darminhalt und Kot.

Aufgrund der ermittelten Carbohydrasen-Aktivitäten lassen sich für makrophytophage und nichtspezialisierte Oribatiden einerseits sowie für mikrophytophage Oribatiden und Collembolen andererseits unterschiedliche Ernährungsweisen mit entsprechenden Enzymgarnituren korrelieren. Dabei ergeben sich hinsichtlich der Hydrolyse von Disacchariden im wesentlichen quantitative, für die Spaltung von Polysacchariden auch qualitative Unterschiede.

Obgleich alle bislang untersuchten Arten reine Cellulose nicht zu spalten vermögen, erscheinen makrophytophage Oribatiden durch das Vorkommen von Carboxymethylcellulase, Cellobiase, Xylanase und Pektinase an ihre Laubstreunahrung gut angepasst. Das Überwiegen von Saccharase-, Maltase- und α-Amylaseaktivität lässt für mikrophytophage Oribatiden und Collembolen dagegen eine bevorzugte Hydrolyse von Bakterienschleim, Algenaufwuchs sowie Zellinhaltsstoffen von Pilzhyphen und Mesophyllgewebe vermuten.

Zweifellos sind makrophytophage Oribatiden für die Primärzersetzung von Bestandesabfall aus vergleichend bodenzoologischer Sicht von weit grösserer Bedeutung als Collembolen. Im Rahmen produktionsbiologischer Fragestellungen erscheint die angewandte Methodik auch für andere edaphische Tiergruppen als Mass der Stoffwechselintensität und zur Beurteilung der Primärzersetzung von Bestandesabfall geeignet.

SUMMARY

CARBOHYDRASES IN LITTER COLLEMBOLA AND ORIBATIDS

In preparations of homogenized whole litter Collembola (2) and oribatids (3) differing with respect to their ecology the enzymes capable of hydrolyzing carbohydrates were identified by enzymatic procedures and thin-layer chromatography. All species studied show quantitative and qualitative differences in the patterns of carbohydrases (table 1). The distribution of the enzymes is correlated with nutritive requirements.

Ecological implications : with regard to the dominance of saccharase, maltase- and α-amylase-activity in « microphytic feeders » (oribatids) and Collembola a preferential hydrolysis only of intracellular compounds of algae, fungal mycelia and bacteria is supported. On the contrary macrophyte-feeding and omnivorous oribatids are able to attack plant structural polysaccharides by carboxymethylcellulase, xylanase and pectinase. Their importance for primary decomposition is commented on.

LITERATUR

DUNGER W., 1956. Untersuchungen über Laubstreuzersetzung durch Collembolen. *Zool. Jb., Abt. System., Ökol. Geogr.* **84**, 75-98.

KOLLER A., NEUKOM H., 1964. Detection of oligogalacturonic acids by thin-layer chromatography. *Biochim. Biophys. Acta* **83**, 366-367.

ROE J. H., RICE E. W., 1948. A photometric method for the determination of free pentoses in animal tissues. *J. biol. Chem.* **173**, 507-512.

SCHUSTER R., 1956. Der Anteil der Oribatiden an den Zersetzungsvorgängen im Boden. *Z. Morph. Ökol. Tiere* **45**, 1-33.

ZINKLER D., 1969. Vergleichende Untersuchungen zum Wirkungsspektrum der Carbohydrasen von Collembolen (Apterygota). *Verhdl. Dtsch. Zool. Ges.*, Innsbruck 1968, p. 640-644.

DISCUSSION

I. N. HEALEY : Your demonstration of the absence of enzymes capable of splitting plant structural carbohydrates in *T. flavescens* interests me because this species frequently takes into its gut quite undecomposed plant matter. Presumably this species can absorb from this matter only the sugars that adheres to its surface. Food selection therefore takes place in the animal's gut rather than whilst the animal is feeding.

D. ZINKLER : Feeding biology of Collembola and Oribatid mites has been studied in great detail by several authors whereas little is known about the question which portions of gut content are utilized by the animals. The aim of our work was to elucidate from an enzymological point of view whether or not Collembola and oribatid mites are able to decompose litter. The mentioned pattern of carbohydrases is theoretical information because the extent of real substrate utilization remains unknown.

K. H. DOMSCH : So far microorganisms have not been excluded as potential producers of the enzymes mentioned. We therefore should confine the results to the statement that carbohydrases are present in mites and Collembola.

D. ZINKLER : The question whether the enzymes mentioned are produced by the gut flora or by the animals themselves is not very important for an ecological interpretation as long as the presumed association between animal and microorganisms is close.

K. H. DOMSCH : It might be preferable to use N-content of the animal tissue as a basis for enzyme activity.

D. ZINKLER : Yes indeed, but in an earlier paper oxygen-consumption of Oribatid mites and Collembola has been calculated from fresh-weight. The same parameter as an usual basis for enzyme activities of whole body homogenates therefore was used for comparison and ecological transparency.

N. HAARLOV : May I draw your attention to the proventricular glands of Oribatid mites? They contain yeastlike cells which are supposed to be symbionts, and so species with these glands may have other enzymes than those without the proventricular glands.

D. ZINKLER : Hoebel-Mavers (1967) found proventricular glands in macrophytic feeders, microphytic feeders and omnivorous oribatids. Unfortunately he says nothing about possible morphological-functional differences.

G. JAGNOW : Haben Sie versucht, die natürlichen Substrate der Tiere nach Auswaschung der Oligosaccharide ihren Enzymen auszusetzen ?

D. ZINKLER : Nein, die verwendeten Polysaccharidsubstrate wurden ausnahmslos in grösstmöglicher Reinheit käuflich erworben.

M. J. SWIFT : I think this work has very interesting implications from the mycological point of view. One might predict that higher plant saccharides such as sucrose or breakdown products such as cellobiose or maltose would be rapidly utilized by fungi in the litter. Your results show however that these saccharides are more readly utilized by the microfauna than trehalose which is a characteristic fungal component. Have you examined other fungal materials such as chitin ?

D. ZINKLER : I can't agree with your mycological implications in detail. Natural substrates utilized by the animals are not only « higher plant saccharides » but also intracellular compounds from a diet-mixture of algae, fungal mycelia, spores and bacteria.

Chitin as fungal material was not examined but there are some quantitative differences in trehalase-activity between microphyte and macrophyte feeding oribatids.